

Année 1929

THESE

POUR LE

N° **136**

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(MENTION MEDECINE)

par

Estera BER

Né le 12 Juillet 1905, à Varsovie (Pologne)

QUELQUES RECHERCHES
SUR LE POUVOIR ANTIVIRULENT
AU COURS DE LA VACCINE EXPÉRIMENTALE
CHEZ LE LAPIN

Président : M. L. TANON, Professeur

LIBRAIRIE MEDICALE ET SCIENTIFIQUE

MARCEL VIGNÉ

13, Rue de l'Ecole-de-Médecine, 13

PARIS

1929

188

Année 1929

THESE

N° _____

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(MENTION MEDECINE)

par

Estera BER

Né le 12 Juillet 1905, à Varsovie (Pologne)

QUELQUES RECHERCHES
SUR LE POUVOIR ANTIVIRULENT
DU COURS DE LA VACCINE EXPÉRIMENTALE
CHEZ LE LAPIN

Président : M. L. TANON, Professeur

LIBRAIRIE MEDICALE ET SCIENTIFIQUE

MARCEL VIGNE

13, Rue de l'Ecole-de-Médecine, 13

PARIS

1929

I. — PROFESSEURS

	MM.
Hydrologie, thérapeutique et climatologie.....	M. VILLARET.
Anatomie	ROUVIÈRE
Anatomie médico-chirurgicale	CUNÉO
Physiologie	ROGER
Physique médicale	STROHL
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et thérapeutique générales	Marc-L LABBÉ
Pathologie médicale	SICARD
Pathologie chirurgicale	LECÈNE
Anatomie pathologique	ROUSSY
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène	N...
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIÉR
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
	CARNOT.
Clinique médicale	BEZANÇON
	ACHARD
	WITAL
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques ...	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER
	DELBET
Clinique chirurgicale	HARTMANN
	LEJARS
Clinique ophtalmologique	GOSSET
Clinique urologique	TERRIEN
	LEGUEU
Clinique d'accouchements	COUVLLAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique	JEANNIN
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	J.-L. FAURE
Clinique thérapeutique médicale	OMBRÉDANNE
Clinique oto-rhino-laryngologique	VAQUEZ
Clinique thérapeutique chirurgicale	SEBILEAU
Clinique propédeutique	DUVAL
Professeur sans chaire	SERGENT
Clinique de la tuberculose	BRANCA.
	L. BERNARD.



II. — AGREGÉS EN EXERCICE

ALAJOUANINE	Neurologie et psychiatrie.
ABRAMI	Pathologie médicale.
AUBERTIN	Pathologie médicale.
BASSET	Pathologie chirurgicale.
BAUDOUIN	Pathologie médicale.
BIET	Physiologie.
BLANCHETIÈRE	Chimie biologique.
BROCQ	Pathologie chirurgicale.
BRULÉ	Pathologie médicale.
CADENAT	Pathologie chirurgicale.
CHABROL	Pathologie médicale.
CHIRAY	Pathologie médicale.
CLERC	Pathologie médicale.
DEBRÉ	Hygiène.
DOGNON	Physique.
DONZELOT	Pathologie médicale.
DUVOIR	Médecine légale.
ÉCALLE	Obstétrique.
FIESSINGER	Pathologie médicale.
GARNIER	Pathologie expérimentale.
GATELLIER	Pathologie chirurgicale.
HARVIER	Pathologie médicale.
LEROUX	Anatomie pathologique.
HEITZ-BOYER	Urologie.
HOVELACQUE	Anatomie.
HUTINEL	Pathologie médicale.
JOYEUX	Parasitologie.
LABBÉ (Henri)	Chimie biologique.
LARDENNOIS	Pathologie chirurgicale.
LEMAITRE	Oto-rhino-laryngologie.
LÉVY-SOLAL	Obstétrique.
LHERMITTE	Pathologie mentale.
LIAN	Pathologie médicale.
MATHIEU	Pathologie chirurgicale.
METZGER	Obstétrique.
MONDOR	Pathologie chirurgicale.
MOURE	Pathologie chirurgicale.
MULON	Histologie.
PHILIBERT	Bactériologie.
QUENU	Pathologie chirurgicale.
RICHTER Fils	Physiologie.
VALLERY-RADOT (Pasteur) ..	Pathologie médicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.
VELTER	Ophthalmologie.
VERNE	Histologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
BUSQUET	Pharmacologie.
GOUGEROT	Pathologie médicale.
GUENIOT	Obstétrique.
LEQUEUX	Obstétrique.
NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
REITTERER	Histologie.
TANCN	Pathologie médicale.
ZIMMERN	Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE à titre permanent

MM.	
ALGLAVN	Clinique chirurgicale.
AUVRAY	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.
GOUGEROT	Clinique médicale.
LAIGNEL-LAVASTINE	Clinique médicale.
LE LORIER	Clinique obstétricale.
LEREBoullet	Clinique médicale infantile.
LÉRY	Clinique médicale.
MOCQUOT	Clinique médicale.
PROUST	Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ	Clinique chirurgicale.

V. — CHARGES DE COURS

MM.	
MAUCLAIRE, agrégé.....	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT	Education physique.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leur auteurs et qu'elle n'en tient aucun compte pour leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS

AU PROFESSEUR TANON
Professeur d'Hygiène de la Faculté de Médecine
de Paris
et de l'Institut de Médecine coloniale.

qui a bien voulu accepter de présider notre thèse

AU DOCTEUR L. CAMUS
Membre de l'Académie de Médecine

*qui nous a guidé dans nos travaux de ses précieux
conseils.*

AU DOCTEUR H. BENARD
Médecin des Hôpitaux

*que nous tenons à assurer de notre précieuse
reconnaissance.*

A NOS MAÎTRES DANS LES HOPITAUX

PROFESSEUR AGRÉGÉ PROUST (1926-1927)

DOCTEUR BROUARDEL (1927-1928)

INTRODUCTION

Depuis la découverte de Jenner, le problème de l'immunité vaccinale est resté à l'ordre du jour. Bien que le virus spécifique de la vaccine ait jusqu'à présent échappé à toutes les recherches, on sait qu'il n'agit pas d'une façon essentiellement différente de celle des autres agents infectieux.

La lésion cutanée, véritable chancre d'inoculation, ne paraît pas indispensable à la production de l'immunité vaccinale.

Les travaux déjà anciens de Chauveau ont montré, en effet, la possibilité d'une vaccination à la suite d'une inoculation extra-tégumentaire, d'une inoculation intraveineuse par exemple.

Mais c'est aux recherches de Chambon, Ménard, Bécclère, de Strauss, Kelsch, Camus, Tanon, Henseval et Convent, que nous devons la connaissance des anticorps de la vaccine, en particulier du pouvoir antivirulent, et les premiers essais d'une immunisation passive.

Tanaka, Provazek, Freyer, Von Pirquet établissent l'existence de précipitines et de substances fixatrices spécifiques.

Dans un travail récent, Gastinel a repris cette étude des anticorps de la vaccine.

Nous nous proposons ici d'exposer brièvement les résultats de quelques recherches que nous avons pu faire nous-mêmes sur le pouvoir antivirulent au cours de la vaccine expérimentale chez le lapin.

TECHNIQUE

Nous avons utilisé dans nos recherches expérimentales comme procédé d'inoculation de la vaccine la technique de Calmette modifiée par L. Camus.

On choisit un lapin de 2 kilos environ. On a soin de prendre un animal ne présentant pas de naevus. Il est rasé sur la région dorsale (l'insufflation d'acide carbonique sous les téguments facilite l'opération). On divise la région rasée en nombre de plages nécessaires et on mesure leur surface. On répartit avec une pipette $3/10\text{ cm}^3$ de la dilution à inoculer sur chaque plage. On gratte jusqu'à l'apparition d'un érythème, en ayant soin d'éviter des traumatismes trop violents. Cet érythème disparaît le lendemain. L'éruption apparaît vers le 3^e-4^e jour. Elle est confluyente avec épaississement de la peau avec une dilution de vaccin au $1/100$. Elle est presque confluyente avec du vaccin au $1/1.000$. Elle se manifeste par des éléments séparés, faciles à compter quand le vaccin est dilué au $1/10.000$.

En ce qui concerne le pouvoir virulicide, nous avons employé la technique suivante :

On mettait en contact une dilution du vaccin (en

général 5 gouttes de vaccin au 1/500 dans l'eau glycinée) avec une quantité variable du sérum à éprouver.

La schéma ci-dessous montre la marche habituelle d'une détermination.

	Sérum	Vaccin au 1/500	Eau chlorurée
Tube A	5 gouttes	5 gouttes	0
Tube B	3 gouttes	5 gouttes	2 gouttes
Tube C	1 goutte	5 gouttes	4 gouttes
Tube témoin	0	5 gouttes	5 gouttes

Les mélanges séjournent 1 heure à l'étuve à 37°. On les inocule au lapin. On note par rapport à l'éruption témoin le délai de l'apparition, le nombre d'éléments, leur aspect (confluence, stade d'évolution, volume, zone lymphogène). Pour les pouvoirs virulicides très actifs, nous répétons l'expérience après avoir dilué au préalable le sérum de dix ou cinquante volumes d'eau chlorurée.

Il est difficile de donner une mesure précise de l'activité du sérum.

Plutôt que de chercher à obtenir la neutralisation complète, c'est-à-dire l'absence de toute pustule sur la plage inoculée avec le mélange sérum-vaccin, il nous a paru préférable de nous contenter d'une réduction notable dans l'intensité de l'éruption.

Nous avons convenu de considérer comme « neutralisé » un vaccin qui, mélangé au sérum

anti, ne donne plus sur une plage d'environ 25 cm² que 5 à 10 pustules, là où le témoin donne une éruption confluente.

C'est dans ce sens que nous prendrons par la suite le mot « neutralisation » lorsque nous dirons que le sérum virulicide neutralise 10 fois ou 20 fois son volume d'une dilution vaccinale d'un taux déterminé.

ETUDE DU POUVOIR VIRULICIDE

L'apparition du pouvoir virulicide dans le sérum des animaux vaccinés est un phénomène constant, dont nous avons cherché à préciser :

la date d'apparition,

l'intensité,

l'évolution,

et l'influence sur ces différents caractères de telle et telle condition expérimentale.

DATE D'APPARITION

Expérience 1. — Un lapin, poids 2 kil. 100, est inoculé le 24 janvier 1928 avec 3/10 de cm³ de vaccin au 1/1.000 sur une surface de 25 cm².

En même temps, on prélève 5 cm³ de sang qui fourniront le sérum témoin.

Le 27, le 30 janvier, le 2 et le 4 février, on fait des prélèvements successifs (sérum A, B, C, D.).

Le 31 janvier, un lapin neuf est inoculé avec les mélanges vaccin-sérum témoin, vaccin-sérum A, vaccin-sérum B. Le 6 février, on constate des plaards confluent sur toutes les plages.

Les sérums de trois et six jours n'ont donc pas encore de pouvoir virulicide.

Le 7 février, on inocule un nouveau lapin avec les mélanges vaccin-sérum B, vaccin-sérum C, vaccin-sérum D.

Le 14 février, on note des placards confluent sur la plage témoin et les plages inoculées avec les mélanges B et C. Rien sur les 2 plages inoculées avec les mélanges D. Le 15 février, 5 pustules et 1 pustule sur ces dernières plages.

Donc, le sérum D, récolté le 4 février, c'est-à-dire 11 jours après la première inoculation, possède déjà un pouvoir virulicide.

Expérience 2. — Le 7 mars 1928, on inocule un lot de 3 lapins avec du vaccin au 1/1.000. Leurs sérums prélevés 3 et 6 jours après se montrent inactifs. Les sérums prélevés le 19 mars, donc au 12^e jour qui suit l'inoculation, ont déjà un pouvoir virulicide net.

De ces expériences on peut tirer les conclusions suivantes :

1° *Le pouvoir virulicide du sérum apparaît chez le lapin vers le 12^e jour qui suit la vaccination.*

2° *Il prend naissance d'une façon brusque, le sérum de 10 jours se montrant inactif, celui de 12 jours étant virulicide à un taux déjà assez élevé.*

ÉVOLUTION DU POUVOIR VIRULICIDE

Après avoir précisé la date et le mode de son apparition, nous avons suivi l'évolution du pouvoir

virulicide en étudiant sa persistance et le taux de son activité.

1^{re} Série d'expériences. — Le 4 janvier 1928, la saignée d'un lapin inoculé le 2 décembre 1927 donne 35 cm³ de sérum (sérum I ou sérum 1 mois).

Ce sérum, mis en contact avec le vaccin selon la technique habituelle, le neutralise au sens que nous avons défini précédemment. 5 gouttes de vaccin au 1/50 mis en contact avec 5 gouttes de sérum ne donnent en effet que 3 pustules sur la plage inoculée.

On reprend le même sérum, mais dilué au 1/10 dans l'eau chlorurée. 5 gouttes de vaccin au 1/500 sont encore presque complètement neutralisées par 1 goutte de sérum au 1/10 ; l'inoculation de ce mélange n'ayant donné que 18 pustules petites et d'apparition tardive comparativement à la plage témoin.

Mais un mélange de 5 gouttes de sérum au 1/10 avec 5 gouttes de vaccin au 1/50 semble bien montrer la limite de l'activité du témoin. La plage inoculée a donné 42 pustules avec un placard semi-confluent.

2^e série d'expériences. — Un lapin est inoculé le 24 janvier 1928 avec 3/10 de cm³ de vaccin au 1/1.000 sur une plage carrée de 5 × 5 cm. On fait des prélèvements de sang successifs tous les 2 jours pendant le premier mois, tous les 15 jours environ ultérieurement.

Dès le 11^e jour, le sérum se montre actif. 2 gouttes de ce sérum neutralisent complètement 5 gouttes de vaccin au 1/1.000.

Afin de suivre l'évolution de l'activité antivirulente, les sérums prélevés à des dates successives ont été comparés entre eux en pratiquant des dilutions au 1/10, voire au 1/50, afin de saisir les taux limites de l'activité.

Les sérums du 16^e et du 18^e jour ont été étudiés en même temps que le sérum du 11^e jour après dilution au 1/10.

L'activité s'est montrée équivalente dans les 3 échantillons, 1 goutte de sérum au 1/10 neutralisant 5 gouttes de vaccin au 1/1.000.

Les sérums des 27^e et 31^e jours ont été comparés au sérum du 18^e jour après dilution au 1/50. 1 goutte de ces sérums ainsi dilués au 1/50 neutralise 5 gouttes de vaccin au 1/1.000. Ce résultat montre que ces 3 sérums sont donc équivalents et par suite équivalents au sérum du 11^e jour déjà trouvé dans l'expérience précédente semblable au sérum du 18^e.

Les sérums du 21^e, 31^e et 37^e jour expérimentés simultanément chez un même animal se montrent doués d'une même activité, activité semblable à celle des sérums de la série précédente si l'on considère le sérum du 31^e jour comme élément de comparaison.

On peut en dire autant des sérums de la 6^e semaine, du 2^e et du 3^e mois.

S 11^e j = S 16^e j = S 18^e j

S 18^e j = S 27^e j = S 31^e j

S 31^e j = S 6^e sem. = S 2^e mois = S 3^e mois

De toutes ces expériences il résulte que le pouvoir virulicide atteint presque d'emblée son maximum

et persiste au moins 3 mois sans présenter de signes d'affaiblissement.

Sans pouvoir, comme nous l'avons dit, assigner de valeur numérique précise au taux maximum de l'activité, on peut dire cependant que cette activité était telle qu'une goutte de sérum dilué au 1/10 neutralisait 5 gouttes de vaccin au 1/1.000, tandis qu'une goutte de sérum au 1/50 mélangée à la même quantité de vaccin ne déterminait plus de neutralisation complète et permettait l'éclosion d'une trentaine de pustules environ.

INFLUENCE DE LA QUANTITÉ DE VACCIN SUR LE POUVOIR VIRULICIDE

Quelques auteurs se sont demandé dans quelle mesure le pouvoir virulicide pouvait être influencé par la dose de vaccin utilisée lors de l'inoculation infectante.

Henseval et Convent relatent les expériences suivantes. Ils vaccinent des lapins avec des dilutions de vaccin plus ou moins étendues pour obtenir des éruptions plus ou moins riches.

Parmi ces lapins ils en choisissent quatre :

Un premier, dont l'éruption présente 20 pustules ;

Un deuxième, dont l'éruption présente 50 pustules ;

Un troisième dont l'éruption présente 250 pustules ;

Un quatrième, avec une éruption confluyente.

Sur chacun de ces animaux ils font des prélèvements de sang 18 jours après l'inoculation.

Les sérums obtenus sont mis en contact avec leur volume de vaccin au 1/250 et les mélanges inoculés à des lapins neufs.

Les résultats furent les suivants :

Lapin 1		61	pustules
— 2		33	—
— 3		8	—
— 4		6	—

Une deuxième expérience donna des résultats semblables, d'où la conclusion de l'auteur que « la quantité de substance antivirulente dépend dans une certaine mesure de la quantité de vaccin inoculé et de l'importance de l'éruption déterminée ».

Nous avons repris nous-mêmes cette question de l'influence de l'inoculation infectante.

Le 7 mars, nous avons inoculé 3 lapins de poids variant entre 1 k. 800 et 1 k. 900, avec du vaccin au 1/1.000 dans l'eau glycérinée.

Le lapin 1 reçoit sur le flanc gauche une scarification linéaire, superficielle, d'une longueur de 1 cm. 5. La quantité approximative de vaccin est de 1/400 cm³.

Le lapin 2 est inoculé avec le même vaccin sur une plage de 1 × 2 cm. 5, la quantité de vaccin étant de 1/40 cm³.

Le lapin 3 est inoculé avec $1/10$ cm³ de vaccin sur une surface de 5×2 cm.

Dans les jours qui suivent on fait des prélèvements de sang simultanément aux 3 lapins. Les sérums prélevés le jour de la vaccination, 3 jours et 6 jours après se montrent tous inactifs. Pour les sérums prélevés 12 jours après l'inoculation, on obtient les résultats suivants :

5 gouttes de sérum + 5 gouttes de vaccin au $1/1.000$ inoculés à un lapin neuf donnent :

3 pustules avec quelques vésicules avec le sérum du lapin 1.

0 pustule, avec le sérum du lapin 2.

1 pustule, avec le sérum du lapin 3.

Cette même expérience répétée avec 1 goutte de sérum pour 5 gouttes de vaccin au $1/500$ donne :

5 belles pustules avec le sérum du lapin 1.

Rien pour les autres.

Avec les sérums suivants, prélevés au 17^e jour on obtient :

Une éruption avortée, une sorte d'épaississement de la peau sans pustules visibles pour le lapin 1, le même genre d'éruption, mais beaucoup plus petite, pour le lapin 2 et une pustule pour le lapin 3.

Sur un autre lapin, on inocule des mélanges de 1 goutte de sérum pour 5 gouttes de vaccin au $1/100$ et le résultat est plus net :

22 à 24 pustules avec épaissement de la peau pour le sérum du lapin 1.

4 pustules pour le lapin 2.

1 pustule pour le lapin 3.

Ces expériences permettent de conclure que la surface d'inoculation et la quantité de vaccin inoculé interviennent dans une certaine mesure sur la date d'apparition du pouvoir virulicide ; le sérum du lapin n'ayant reçu qu'une petite scarification, ne montre pas encore d'activité nette alors que les sérums des deux autres lapins inoculés sur une surface plus large sont déjà virulicides à un taux assez élevé.

Pour ce qui concerne le taux maximum du pouvoir virulicide, la surface d'inoculation ne semble pas intervenir d'une façon nette. Les expériences faites avec des sérums prélevés 1 mois et 1 mois et demi après la vaccination montrent à peu près la même activité pour tous les trois lapins. 5 gouttes de sérum au 1/50 pour 5 gouttes de vaccin au 1/1.000 modifient encore un peu l'éruption et au lieu d'un placard confluent on obtient de 60 à 80 pustules. Les mélanges de 1 goutte de sérum au 1/50 avec 5 gouttes de vaccin au 1/1.000 donnent des éruptions confluentes pour tous les trois lapins.

En résumé, si les quelques recherches que nous avons pu faire sont dans une certaine mesure en accord avec les expériences de Henseval et Convent pour ce qui concerne la date d'apparition du pouvoir virulicide, il ne semble pas qu'on puisse accorder à la

quantité de vaccin inoculé une grande influence sur le taux du pouvoir virulicide.

INFLUENCE DE LA VOIE D'INTRODUCTION DU VACCIN

SUR LE POUVOIR VIRULICIDE

Il eut été intéressant de rechercher dans quelle mesure la voie d'introduction d'une même quantité du vaccin intervenait sur la date d'apparition et sur le taux du pouvoir virulicide.

Des expériences en cours ne nous permettent pas encore d'apporter une réponse à ce sujet.

Les recherches de L. Camus nous apprennent que chez le lapin une injection intraveineuse de 0.00005 cm^3 par kilo ne fait apparaître un pouvoir virulicide, d'ailleurs léger, que vers le 12^e jour, alors qu'au 8^e jour ce pouvoir est encore nul.

Ce résultat comparé aux expériences que nous avons pratiquées avec des doses comparables de vaccin en inoculation cutanée semble indiquer que les petites doses de vaccin agissent sur le pouvoir virulicide de la même façon, qu'elles soient introduites par la peau ou dans le système veineux.

En ce qui concerne les doses élevées de vaccin, le pouvoir virulicide apparaît peut-être plus rapidement à la suite d'une injection intraveineuse qu'à la suite d'une inoculation cutanée.

Une expérience de L. Camus concernant un lapin ayant reçu $0,2 \text{ cm}^3$ de vaccin par kilo relate en effet l'apparition d'un léger pouvoir virulicide

dès le 5^e jour et un pouvoir virulicide intense dès le 8^e.

Dans des expériences assez nombreuses, mais ne comportant pas de déterminations quantitatives, Gastinel a constaté l'apparition du pouvoir virulicide aussi bien à la suite d'une inoculation cutanée, qu'à la suite d'une inoculation intraveineuse, intra-péritonéale, ou sous-cutanée.

INFLUENCE DES AGENTS PHYSIQUES SUR LA PROPRIÉTÉ ANTIVIRULENTE DU SÉRUM

Dès que le pouvoir virulicide du sérum des sujets vaccinés fut constaté, différents auteurs ont cherché à préciser sa nature.

Béclère, Chambon, Ménard et Jousset, après de nombreuses recherches, lui ont trouvé de grandes analogies avec les diastases.

La substance antivirulente résiste au temps, à la chaleur, aux moisissures. Elle traverse les filtres de porcelaine. Elle est précipitée par l'alcool et suit les matières albuminoïdes du sérum, ou plus exactement la globuline, à l'exclusion de la sérine.

Nous avons cherché à préciser l'influence de la chaleur et des rayons ultra-violets.

INFLUENCE DE LA CHALEUR

Un sérum actif prélevé sur un lapin inoculé un mois auparavant est porté au bain-marie à 56° pendant une demi-heure.

Le 14 janvier 1928 un lapin est inoculé avec des

mélanges de sérum chauffé-vaccin et sérum non chauffé-vaccin. On divise la surface rasée du lapin en 7 plages dont 3 sont inoculées avec des dilutions différentes de sérum frais-vaccin, 3 avec les mêmes dilutions de sérum chauffé-vaccin ; la septième plage est réservée au vaccin sans sérum.

Le 19 février, on constate un placard confluent sur la plage témoin, de 0 à 4 pustules sur les autres sans aucune différence entre le sérum chauffé et le sérum neuf.

Donc, le sérum chauffé à 56° pendant une demi-heure garde entièrement son pouvoir virulicide.

Le 11 décembre 1928, on saigne un lapin inoculé le 26 novembre. On porte différents échantillons de son sérum aux températures de 56°, 61°, 66°, 71° et 76°, durant une demi-heure.

Le 20 février 1929, un lapin neuf est inoculé avec des mélanges vaccin-sérum frais et vaccin-sérum chauffé.

Le 25 février on compte 57 pustules sur la plage témoin (vaccin au 1/1000) et 20 pustules, mal évoluées pour le sérum chauffé à 76°.

Le 27 février on compte :

57 pustules pour la plage témoin.

23 pustules pour le sérum à 76°.

9 pustules, petites, mal évoluées, pour le sérum à 71°.

10 pustules, petites, mal évoluées, pour le sérum à 66°.

0 pustule, petite, mal évoluée, pour le sérum à 61°.

1 pustule petite, mal évoluée, pour le sérum à 56°.

3 pustules, petites, mal évoluées, pour le sérum non chauffé.

Ce n'est donc que vers le 76° que le pouvoir virulicide semble diminuer; température assez haute, correspondant à la température de la coagulation du sérum.

Béclère et Jousset en desséchant le sérum ont vu que la substance antivirulente supporte une température de 100° pendant 38 minutes, sans perdre son activité et ne paraît pas complètement détruite à 125°.

INFLUENCE DES RAYONS ULTRA-VIOLETS

Un sérum actif prélevé un mois après l'inoculation est soumis à l'irradiation par une lampe à rayons ultra-violets de 5 ampères, durant 10 minutes à une distance de 50 centimètres du brûleur. Cette dose tue complètement un vaccin actif.

Le 17 janvier 1928, on inocule un lapin avec des mélanges vaccin-sérum non irradié et vaccin-sérum irradié d'après la technique usuelle.

Le 23 janvier, on constate un placard confluent sur la plage témoin et l'on compte de 1 à 9 pustules sur toutes les autres. Aucune différence entre le sérum non irradié et le sérum irradié.

Les rayons ultra-violets ne détruisent donc pas le pouvoir virulicide du sérum.

RECHERCHES SUR LE POUVOIR PREVENTIF ET CURATIF DU SERUM VIRULICIDE

De nombreuses recherches ont été faites sur le pouvoir préventif et curatif du sérum virulicide. Une question importante s'attachait à ces problèmes : celle de la sérothérapie antivariolique. Parmi ces recherches, nous citerons ici quelques expériences de L. Camus et de Henseval et Convent, qui nous ont paru les plus significatives.

En ce qui concerne le pouvoir préventif du sérum virulicide, L. Camus a montré que si l'on injecte par voie endo-veineuse à un lapin neuf, 10 centimètres cubes par kilo acquiert au moins une immunité partielle contre une inoculation ultérieure.

Le pouvoir préventif est le même, que l'injection ait été faite 10 jours ou quelques minutes avant l'inoculation du vaccin : « l'immunité n'a pas besoin d'incubation ».

D'autre part, Henseval et Convent ont étudié ce pouvoir préventif suivant les différentes voies d'introduction du sérum. Pour cela, ils ont utilisé 9 animaux de poids variant entre 1 kil. 300 et 1 kil. 400. Trois d'entre eux ont reçu une injection

sous-cutanée de sérum virulicide à raison de 20, 50 et 100 centimètres cubes, trois autres lapins ont reçu les mêmes quantités de sérum dans la cavité péritonéale ; pour les trois derniers enfin, ils ont utilisé la voie endo-veineuse.

24 heures après l'injection du sérum, tous les lapins étaient inoculés avec 1 centimètre cube de vaccin au 1/100^e, sur une surface de 120 centimètres carrés.

L'injection sous-cutanée n'a immunisé l'animal contre le virus vaccinal qu'à la dose de 100 centimètres cubes ; l'injection intra-péritonéale produit le même effet avec une dose 2 fois moindre ; la voie intra-veineuse semble être la plus active, l'injection de 20 centimètres cubes de sérum virulicide donnant déjà une immunité partielle nette (33 pustules au lieu d'une éruption confluyente).

Pour ce qui concerne l'effet préventif du sérum virulicide pendant la phase d'incubation, L. Camus a mis en évidence que ce pouvoir dépendait de la date et de la dose injectée.

Les doses employées par l'auteur (10 centimètres cubes de sérum par kilogramme d'animal) n'agissaient pas au delà de la cinquième heure après l'inoculation du vaccin.

Henseval et Convent sont arrivés à des délais plus prolongés. Ils ont remarqué l'action empêchante du sérum se poursuivait au delà de la vingt-quatrième heure après l'inoculation du vaccin, mais ils ont employé des animaux de petite taille pesant

900 grammes environ et des doses de sérum considérables, variant entre 60 et 90 centimètres cubes, donc dix fois plus grandes que celles de Camus.

Pour ce qui concerne le pouvoir curatif du sérum virulicide, tous les auteurs sont d'accord que son action est nulle après le début de l'éruption vaccinale.

En résumé : ces différentes recherches nous montrent que l'action curative du sérum virulicide est nulle ; son action préventive est indiscutable mais relativement faible, nécessitant des doses élevées de sérum injectées dans des délais très proches de l'inoculation (jusqu'à la cinquième heure avec 10 centimètres cubes par kilo d'animal jusqu'à la vingt-quatrième heure avec 100 centimètres cubes).

Nous avons recherché si cette action préventive du sérum anti ne se montrait pas plus efficace lorsqu'on administrait le sérum *in situ*, c'est-à-dire dans l'épaisseur du derme, au niveau même des zones d'inoculation du vaccin.

Dans ce but, nous avons pratiqué sur la peau du lapin de larges inoculations vaccinales. Sur la plage cutanée ainsi inoculée, nous avons, à des dates variables et en des points différents, effectué des injections intra-dermiques de sérum virulicide et étudié les modifications que pouvait apporter l'imprégnation sérique à l'éruption vaccinale.

Voici quelques-unes de nos expériences :

I. — Le 20 juin 1928, un lapin d'un poids de 2 kil. 100 est inoculé sur une surface cutanée de

9 cm x 11 cm. 5 avec du vaccin au 1/200° dans l'eau glycinée.

Le 21 juin, c'est-à-dire 24 heures après l'inoculation du vaccin, on pratique dans l'angle supérieur de la surface cutanée une injection intradermique de 1 cmc. 5 de sérum virulicide, dont une goutte neutralise 50 gouttes de vaccin au 1/500°.

Le 22, le 23 et le 25 juin, on répète la même injection en des points différents de la zone inoculée.

Le 28 juin, on note un placard confluent avec gros épaissement de la peau sur toute la surface inoculée. L'injection intra-dermique du sérum reste sans effet sur l'évolution de l'éruption.

II. — Le 25 juin 1928, un lapin neuf, d'un poids de 1 kil. 850 est rasé sur le dos sur une surface de 49 centimètres carrés. Il reçoit en quatre points différents de cette surface quatre injections intradermiques de 1-2 centimètres cubes de même sérum que pour l'expérience précédente.

On inocule ensuite la zone rasée avec 1 cmc. 5 d'une dilution de vaccin au 1/1.000°.

Le 30 juin, on note une éruption confluyente sur toute la surface inoculée, de belles pustules même au niveau des injections.

Il résulte de ces expériences que le sérum virulicide employé aux doses faibles qu'implique l'injection intra-dermique s'est montré complètement inactif lorsque son application suit de près ou même précède l'inoculation vaccinale.

ORIGINE PRÉSUMÉE DU POUVOIR VIRULICIDE

D'après les travaux de Pfeiffer et Marx, Wassermann, Deutsch, London, les organes *hémato-poïétiques* : rate, moëlle osseuse, ganglions, prendraient une part active dans l'élaboration des anticorps bactériolytiques et hémolytiques.

On peut se demander s'il en est de même en ce qui concerne le pouvoir virulicide vis-à-vis du virus vaccinal.

Les travaux de L. Camus ont montré que ce pouvoir virulicide était inégalement réparti dans l'organisme ; nul ou à peu près pour le liquide céphalo-rachidien, très faible pour l'humeur aqueuse de l'œil ; c'est dans le milieu sanguin qu'il révèle son activité la plus grande.

D'après Gastinel, c'est dans l'extrait hépatique que le pouvoir virulicide ferait tout d'abord son apparition. Les expériences ont été faites à l'aide d'organes soigneusement débarrassés de sang, puis broyés dans l'eau physiologique et desséchés sous la cloche à vide. Cet extrait sec, finement pulvérisé au mortier, était

réémulsionné dans 10 volumes d'eau physiologique stérile, puis centrifugé après 2 heures de macération à la glacière. Le liquide décanté était mélangé à raison de 5 parties pour 1 de vaccin au 1/100°.

Dans ces conditions, Gastinel a vu le pouvoir virulicide apparaître dans l'extrait de foie dès le sixième jour, alors qu'il était encore absent dans le sérum sanguin.

L'extrait de rate ne montre que plus tardivement ce pouvoir, soit en même temps que le sérum sanguin, soit même ultérieurement.

Nous avons nous-mêmes sur quelques animaux étudié le pouvoir virulicide comparativement dans le sérum sanguin et dans les extraits d'organes.

Nous avons utilisé des extraits frais constitués par l'organe soigneusement lavé à l'eau physiologique et réduit en pulpe dans son volume d'eau chlorurée. L'extrait ainsi obtenu était mélangé à raison d'1 goutte et de 5 gouttes à 5 gouttes d'une dilution vaccinale au 1/500°.

Ainsi utilisés, les extraits ne nous ont pas paru doués d'un pouvoir virulicide notable, aussi bien en ce qui concerne l'extrait de foie qu'en ce qui concerne l'extrait de rate. La surrénale ne nous a pas semblé plus active.

Ces résultats négatifs concernent des animaux vaccinés depuis 16 jours dont le sérum neutralisait 5 volumes d'une dilution vaccinale au 1/500°. Voici le protocole d'une de ces expériences :

Le 11 décembre 1928, on saigne un lapin inoculé

largement le 26 novembre avec du vaccin actif. On enlève le foie, la rate, les surrénales. Après avoir trituré chaque organe dans l'eau chlorurée, on prend 1 goutte puis 5 gouttes de chaque extrait et on les mélange avec 5 gouttes de vaccin au 1/500°. Séjour à l'étuve de 45 minutes. Un lapin d'un poids de 2 k. 32c est inoculé avec les mélanges : vaccin-extrait hépatique, vaccin-extrait splénique, vaccin-sérum, à raison de 2 plages pour chaque.

Le 18 décembre, on note : Placards confluents avec épaississement de la peau pour les extraits hépatique et splénique, 3 pustules sur la plage inoculée avec 1 goutte de sérum et rien sur la plage inoculée avec 5 gouttes de sérum. Sur un autre lapin d'un poids de 2 kil. 150, on répète la même expérience en comparant au sérum l'extrait de surrénale. Le résultat est moins net, la plage témoin inoculée avec du vaccin seul n'ayant donné que 15 pustules. Toutefois, on note une dizaine de pustules sur les plages inoculées avec l'extrait de surrénale, 5 pustules sur la plage inoculée avec 1 goutte de sérum et rien pour 5 gouttes de sérum.

En résumé, les quelques expériences que nous avons pu faire ne nous permettent pas d'incriminer plus spécialement tel ou tel organe comme lieu de formation du pouvoir virulicide.

CONCLUSIONS

1° L'infection vaccinale chez le lapin fait apparaître d'une façon régulière dans le sérum sanguin un *pouvoir antivirulent* spécifique ;

2° Ce pouvoir virulicide est décelable dès le *douzième jour* qui suit l'inoculation cutanée. D'abord faible, il augmente rapidement pour atteindre quelques jours plus tard un maximum, auquel il se tient pendant plusieurs mois.

A ce moment, le sérum virulicide est capable de neutraliser de 50 à 200 fois son volume d'une dilution vaccinale normalement active au 1/1.000°.

3° Le pouvoir virulicide apparaît un peu plus vite à la suite de larges inoculations cutanées, qu'à la suite d'une simple scarification, mais les différences sont en réalité bien légères ;

4° Pour la même dose de vaccin, le pouvoir virulicide est plus précoce à la suite d'une inoculation intraveineuse qu'à la suite d'une inoculation cutanée, mais là encore, les différences sont légères ;

5° Le pouvoir virulicide résiste au chauffage à 56°, tandis que le pouvoir bactéricide disparaît à cette même température.

Il persiste intense après chauffage d'une demi-heure à 60, 65 et 70° et faiblit à 76°, température de coagulation des albumines ;

6° Une irradiation de 10 minutes à 50 centimètres du brûleur d'une lampe à vapeur de mercure de 5 ampères ne modifie pas l'activité du pouvoir virulicide ;

7° Le sérum virulicide est en même temps spécifiquement *préventif*.

Toutefois, cette action préventive ne peut être mise en évidence qu'en utilisant de fortes doses, 20 à 50 centimètres cubes par kilo, injectées dans les veines soit avant l'inoculation, soit un petit nombre d'heures après.

L'introduction du sérum virulicide dans l'épaisseur même des téguments soumis à l'inoculation ne peut être faite à des doses suffisantes pour enrayer l'éruption vaccinale ;

8° Les extraits de rate, de foie, de surrénale ne jouissent pas d'un pouvoir virulicide comparable à celui du sérum sanguin.

M. le Doyen,

ROGER.

Vu : Le Président de thèse,

L. TANON.

Vu et permis d'imprimer,

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLETY.

